

**PENGARUH pH INKUBASI BAKTERI TERMOFILIK DALAM
MENGHASILKAN BIOETANOL**

SKRIPSI



**OLEH:
NUR VAIZI
NIM. 18032089/2018**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2022**

**PENGARUH pH INKUBASI BAKTERI TERMOFILIK DALAM
MENGHASILKAN BIOETANOL**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains



**OLEH:
NUR VAIZI
NIM. 18032089/2018**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2022**

PERSETUJUAN SKRIPSI

**PENGARUH pH INKUBASI BAKTERI TERMOFILIK DALAM
MENGHASILKAN BIOETANOL**

Nama : Nur Vaizi
NIM : 18032089
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 1 Agustus 2022

Mengetahui
Ketua Jurusan

Disetujui Oleh:
Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 2006042 001



Dr. Irdawati, M.Si
NIP.19710430 200112 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI


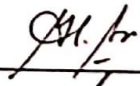
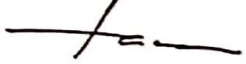
Nama : Nur Vaizi
NIM : 18032089
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

PENGARUH pH INKUBASI BAKTERI TERMOFILIK DALAM MENGHASILKAN BIOETANOL

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, Agustus 2022

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
Ketua	: Dr. Irdawati, M. Si.	 _____
Anggota	: Dr. Linda Advinda, M. Kes.	 _____
Anggota	: Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.	 _____

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Vaizi
NIM : 18032092
Program Studi : Biologi
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya yang berjudul "Pengaruh pH Inkubasi Bakteri Termofilik dalam Menghasilkan Bioetanol" adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang ditulis dan diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 18 Agustus 2022

Mengetahui
Ketua Jurusan



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 197508152006042001

Saya yang menyatakan,

Nur Vaizi
Nim. 18032089

Pengaruh pH Inkubasi Bakteri Termofilik dalam Menghasilkan Bioetanol

Nur Vaizi

ABSTRAK

Bioetanol merupakan jenis alkohol yang proses produksinya melalui tahap fermentasi dengan menggunakan mikroba. Pembuatan bioetanol dapat diproduksi oleh mikroorganisme jenis ragi dan bakteri termofilik. Bakteri termofilik adalah jenis mikroba yang stabil terhadap suhu tinggi (termostabil). Pemanfaatan bakteri termofilik dalam bidang bioteknologi dilakukan karena membran sel bakteri termofilik tersusun oleh asam lemak jenuh, sehingga dapat bersifat stabil pada suhu tinggi. Produksi bioetanol dari bakteri termofilik dipengaruhi oleh beberapa faktor penting, diantaranya jenis dan jumlah mikroba, lama fermentasi, media fermentasi, suhu, pH. Tujuan penelitian ini untuk menentukan isolat bakteri termofilik yang dapat menghasilkan bioetanol dan menentukan pH optimum produksi bioetanol oleh bakteri termofilik.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan eksperimen dengan 3 tahap. Tahap 1 adalah seleksi atau skrining bakteri termofilik penghasil bioetanol (penelitian deskriptif). Tahap 2 adalah fermentasi dari isolat hasil skrining tahap 1 (penelitian eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi jenis isolat, 16 perlakuan dan 2 ulangan). Tahap 3 adalah produksi bioetanol pada variasi pH inkubasi (penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi pH inkubasi, 6 perlakuan dan 3 ulangan. Data hasil penelitian tahap 1 dianalisis secara deskriptif dan data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk tabel, sedangkan data hasil penelitian 2 dan 3 dianalisis dengan uji ANOVA dan jika F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri termofilik memiliki potensi dalam memproduksi bioetanol dan variasi pH berpengaruh terhadap produksi bioetanol dari bakteri termofilik. Isolat yang memiliki kemampuan memproduksi bioetanol tertinggi merupakan isolat SSA 8 dengan hasil 1,001%. Variasi pH inkubasi berpengaruh terhadap hasil produksi bioetanol oleh bakteri termofilik, dengan pH optimal produksi bioetanol dari bakteri termofilik adalah pH 8 yang menghasilkan sebanyak 1,001% bioetanol.

Kata kunci : Bakteri Termofilik, Bioetanol, pH inkubasi

Effect of Incubation pH of Thermophilic Bacteria in Produce Bioethanol

Nur Vaizi

ABSTRAK

Bioethanol is a type of alcohol whose production process goes through a fermentation stage using microbes. Bioethanol production can be produced by yeast and thermophilic bacteria. Thermophilic bacteria are types of microbes that are stable to high temperatures (thermostable). The use of thermophilic bacteria in the field of biotechnology is carried out because the cell membranes of thermophilic bacteria are composed of saturated fatty acids, so they can be stable at high temperatures. Production of bioethanol from thermophilic bacteria is influenced by several important factors, including the type and number of microbes, duration of fermentation, fermentation media, temperature, pH. The purpose of this study was to determine the isolates of thermophilic bacteria that could produce bioethanol and to determine the optimum pH for bioethanol production by thermophilic bacteria.

This research is a descriptive and experimental research with 3 stages. Stage 1 is the selection or screening of bioethanol-producing thermophilic bacteria (descriptive research). Stage 2 is the fermentation of isolates from screening stage 1 (experimental research using RAL with various types of isolates, 16 treatments and 2 replications). Stage 3 is the production of bioethanol at variations in incubation pH (experimental research using a RAL with variations in incubation pH, 6 treatments and 3 replications). The data from the first stage of the study were analyzed descriptively and the data obtained were presented in tabular form, while the result data were research 2 and 3 were analyzed by ANOVA test and if the calculated F is greater than the F table, then proceed with the DMRT further test at a 5% significance level.

The results showed that thermophilic bacteria have the potential to produce bioethanol and variations in pH affect the production of bioethanol from thermophilic bacteria. The isolate that had the highest bioethanol production ability was SSA 8 isolate with a yield of 1.001%. Variations in incubation pH affect the yield of bioethanol production by thermophilic bacteria, with the optimal pH for bioethanol production from thermophilic bacteria is pH 8 which produces 1.001% bioethanol.

Keywords: Thermophilic Bacteria, Bioethanol, incubation pH

KATA PENGANTAR



Penulis mengucapkan puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi tentang “Pengaruh pH Inkubasi Bakteri Termofilik dalam Menghasilkan Bioetanol”. Shalawat beriring salam penulis kirimkan untuk arwah Rasullullah Muhammad SAW junjungan umat seluruh alam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Irdawati, M. Si., sebagai pembimbing dan penasehat akademik, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama perkuliahan, memberikan waktu, pikiran dan tenaga untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sangat sabar saat penyelesaian skripsi.
2. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed sebagai dosen penguji dan ketua Program Studi Biologi yang telah membantu dan memberikan arahan, saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Linda Advinda, M. Kes., sebagai dosen penguji yang telah memberikan arahan, saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.
4. Bapak dan Ibu Dosen, Pimpinan, dan Staf Jurusan Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.

5. Kedua orang tua yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini
6. Keluarga besar Biologi Sains 2018 yang telah memberikan dukungan.

Semoga bantuan Bapak/Ibu dan rekan-rekan dapat bernilai ibadah dan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua kalangan yang membaca dan untuk penelitian selanjutnya.

Padang, Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	5
B. Rumusan Masalah	5
C. Hipotesis Penelitian	5
D. Tujuan Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Bioetanol	6
B. Bakteri Temofilik Penghasil Bioetanol	8
C. Pengaruh pH terhadap Proses Produksi Bioetanol	10
D. Metode Destilasi Bioetanol	11
BAB III METODE PENELITIAN	15
A. Jenis Penelitian	15
B. Waktu dan Tempat Penelitian	15
C. Alat dan Bahan	15
D. Prosedur Penelitian	16
E. Pengamatan	19
F. Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
A. Hasil	20
B. Pembahasan	22
BAB V PENUTUP	29
A. Kesimpulan	29
B. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30

LAMPIRAN36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kadar bioetanol 16 isolat bakteri termofilik	21
2. Kadar bioetanol bakteri termofilik pada variasi pH	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kadar Bioetanol 16 Isolat Bakteri Termofilik dari Hasil Fermentasi	36
2. Produksi Bioetanol pada Variasi pH dengan Metode Fermentasi	39
3. Dokumentasi Penelitian	43

BAB I

PENDAHULUAN

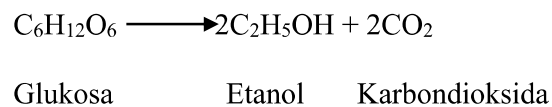
A. Latar Belakang

Penggunaan energi untuk berbagai keperluan seperti untuk industri, transportasi dan rumah tangga di hampir semua negara sepenuhnya bergantung pada bahan bakar fosil khususnya minyak bumi (Krause, 2001). Eksploitasi minyak sebagai bahan bakar yang tidak dapat diperbaharui terus menerus menyebabkan persediaan bahan bakar fosil semakin langka. Perkembangan kebutuhan energi dunia yang semakin meningkat dan keterbatasan energi fosil menyebabkan perhatian saat ini ditujukan untuk mencari sumber-sumber energi terbarukan yang ramah lingkungan seperti energi surya, energi hidro, energi geotermal, dan energi biomassa (Korbitz, 2001).

Menurut Balat *et al.*, (2008) energi biomassa berpeluang besar sebagai pengganti bahan bakar fosil dengan sifatnya yang ramah lingkungan yang mempengaruhi isu global tentang perubahan iklim. Energi biomassa adalah energi yang dibuat untuk bahan bakar yang didapat dari sumber alami yang dapat diperbaharui diantaranya berasal dari makhluk hidup, termasuk tanaman, hewan dan mikroba. Biomassa merupakan sumber energi terbarukan yang mempunyai potensi tinggi. Menurut Gubitza (1999), negara Brazil dan Jepang telah berhasil mengkonversi biomassa secara efisien menjadi bioetanol, yang sangat potensial sebagai campuran bahan bakar bensin.

Bioetanol merupakan jenis alkohol yang proses produksinya melalui tahap fermentasi dengan menggunakan mikroba (Morris dan Armada, 2006). Dalam pembuatan bioetanol dapat dilakukan dua tahap yaitu hidrolisis dan fermentasi.

Hidrolisis merupakan proses penguraian suatu senyawa oleh reaktan dengan air. Proses ini sangat penting dalam pembuatan bioetanol, karena proses ini menentukan jumlah glukosa yang dihasilkan yang akan difermentasikan menjadi bioetanol. Prinsip dari hidrolisis pati adalah pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstrosa atau monosakarida yaitu glukosa ($C_6H_{12}O_6$) (Bahri *et al.*, 2018). Tahap fermentasi dilakukan dengan menggunakan bakteri, dimana bakteri tersebut akan memakai glukosa sebagai substrat fermentasi untuk pertama kali. Prinsip dasar dari fermentasi ini adalah mengaktifkan aktivitas mikroba yang bertujuan mengubah bahan baku menjadi hasil (Sukaryo *et al.*, 2013). Berjalannya proses fermentasi ditandai dengan adanya gelembung udara kecil, yang mana gelembung udara tersebut adalah gas CO_2 yang dihasilkan dari proses fermentasi (Trisakti *et al.*, 2015).



Proses pembuatan bioetanol dari glukosa (Salsabila *et al.*, 2013).

Sebelum tahap fermentasi dilakukan maka bakteri termofilik akan diskriming terlebih dahulu dengan menumbuhkannya pada medium selektif TMM (*Thermophilic Minimum Medium*). Penelitian yang dilakukan oleh Martosuyono dan Misgiyarta (2010) membuktikan bahwa medium TMM dapat menjadi medium selektif untuk menumbuhkan bakteri termofilik penghasil bioetanol. Diantara isolat yang telah diujikan dengan media TMM adalah *Bacillus caldoxyloliticus* dan *Geobacillus thermoleovorans*.

Pembuatan bioetanol dapat diproduksi oleh mikroorganisme jenis ragi dan bakteri termofilik (Riyanti, 2011). Bakteri termofilik adalah jenis mikroba yang

stabil terhadap suhu tinggi atau termostabil. Biasanya bakteri termofilik dapat dijumpai di alam pada berbagai tempat seperti daerah aktivitas gunung berapi, dasar laut yang memiliki sumber mata air panas serta pada tempat sumber air panas (Irdawati *et al.*, 2015). Pemanfaatan bakteri termofilik dalam bidang bioteknologi dilakukan karena bakteri termofilik efisien terhadap keadaan suhu tinggi. Membran sel pada bakteri termofilik tersusun oleh asam lemak jenuh sehingga dapat bersifat stabil pada suhu tinggi (Novitasari dan Nuniek, 2014). Bakteri termofilik memiliki protein yang lebih stabil dan tahan panas yang membuatnya dapat tahan dan berkembang pada suhu ekstrem, dan protein yang terdapat pada bakteri termofilik tersebut memiliki ikatan ionik dan hidrofobik yang kuat (Maria dan Surya, 2012). Pembuatan bioetanol dari bakteri termofilik dipengaruhi oleh beberapa faktor penting, diantaranya jenis dan jumlah mikroba, lama fermentasi, media fermentasi, suhu, serta pH (Arif *et al.*, 2016).

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi bioetanol (Dompeipen dan Riardi, 2015) karena pH mempengaruhi kondisi pertumbuhan mikroba (Hendrawan *et al.*, 2017). pH sangat berkaitan dengan keberadaan ion hidrogen. Konsentrasi ion hidrogen sangat mempengaruhi aktivitas enzim, karena enzim aktif apabila asam amino yang merupakan sisi aktif enzim berada dalam keadaan ionisasi tepat. pH terlalu asam atau terlalu basa akan menyebabkan enzim terdenaturasi sehingga enzim tidak aktif (Prima, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ahmad *et al.*, (2017), mengatakan bahwa perubahan suhu dan pH adalah faktor terpenting dalam fermentasi bioetanol, yang mendapatkan hasil bahwa pH yang paling cocok untuk

fermentasi bioetanol adalah pH 9 dengan lama fermentasi selama 3 hari , akan menghasilkan bioetanol dengan nilai 4,808 g/L.

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Weissgram *et al.*, (2015) juga menunjukkan hasil bahwa pH sangat berpengaruh terhadap produksi bioetanol dari bakteri termofilik. Namun responnya berbeda pada setiap isolat yang diujikan, seperti *Thermoanaerobacter ethanolicus* sensitif terhadap penurunan kadar pH dan kenaikan suhu serta memiliki sifat optimum yang terletak jelas pada pH 7, *T. mathranii* dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas antara pH 4 dan pH 7, dan *T. saccharolyticum* di sisi lain lebih sensitif terhadap suhu dari pada pH, dengan parameter budidaya optimum antara pH 4 hingga pH 7. Penelitian yang dilakukan oleh Orlygsson (2012) juga mendapatkan hasil pertumbuhan bakteri termofilik penghasil bioetanol optimum pada pH 6,5.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Scully dan Johann (2015) bakteri termofilik lebih menguntungkan dalam produksi bioetanol, karena bakteri termofilik memiliki spektrum substrat yang luas dan dapat mendegradasi heksosa dan pentosa secara bersamaan, beberapa bakteri termofilik secara alami mendegradasi karbohidrat kompleks yang beroperasi pada suhu yang meminimalkan resiko kontaminasi mesofilik. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan Salim *et al.*, (2015) yang menunjukkan bahwa semua isolat bakteri termofilik yang diamatinya memiliki kemampuan untuk menghasilkan bioetanol, namun terdapat 2 isolat yang berpotensi besar dalam menghasilkan bioetanol yang ditandai dengan absorbansi yang rendah setelah penambahan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$).

Berdasarkan latar belakang yang dirumuskan maka penulis telah melakukan penelitian tentang “Pengaruh pH Inkubasi Bakteri Termofilik dalam Menghasilkan Bioetanol”.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat isolat bakteri termofilik yang berpotensi dalam menghasilkan bioetanol sebagai alternatif pengganti bahan bakar fosil?
2. Apakah terdapat pengaruh pH terhadap isolat bakteri termofilik dalam menghasilkan bioetanol sebagai alternatif pengganti bahan bakar fosil?

C. Hipotesis Penelitian

1. Konsentrasi pH berpengaruh terhadap produksi bioetanol oleh bakteri termofilik sebagai alternatif pengganti bahan bakar fosil

D. Tujuan Penelitian

1. Menentukan isolat bakteri termofilik yang berpotensi dalam menghasilkan bioetanol sebagai alternatif pengganti bahan bakar fosil
2. Mengetahui pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri termofilik dalam menghasilkan bioetanol sebagai alternatif pengganti bahan bakar fosil

E. Manfaat Penelitian

1. Bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dalam bidang mikrobiologi
2. Memberikan informasi bahwa bakteri termofilik dapat menghasilkan bioetanol yang digunakan sebagai salah satu energi alternatif pengganti bahan bakar fosil
3. Memberikan informasi bahwa variasi pH berpengaruh terhadap hasil produksi bioetanol bakteri termofilik.